

# LEUCEMIA MIELÓIDE CRÓNICA: DESAFIOS NO TRATAMENTO DA FASE BLÁSTICA.

---

A propósito de um caso clínico

Marta Rebocho Nunes Alves

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina

Porto, 2014

Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar  
Universidade do Porto

Centro Hospitalar do Porto

**Mestrado Integrado em Medicina**

Ano lectivo 2013/2014

**LEUCEMIA MIELÓIDE CRÓNICA: DESAFIOS NO TRATAMENTO  
DA FASE BLÁSTICA.  
A propósito de um caso clínico**

Marta Rebocho Nunes Alves<sup>1</sup>

Orientadora: Dr.<sup>a</sup> Alexandra Mota<sup>2</sup>

<sup>1</sup>6º ano do Mestrado Integrado em Medicina, de Instituto Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto.

<sup>2</sup>Assistente Hospitalar Graduada de Hematologia Clínica, Centro Hospitalar do Porto; Professora Auxiliar Convidada do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar.

Dissertação de candidatura ao grau de Mestre em Medicina, submetida ao Instituto Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto

A presente dissertação foi redigida em conformidade com o acordo ortográfico pregresso.

Agradecimentos:

À Doutora Alexandra Mota não só pela infinita paciência e compreensão mas também pela disponibilidade e bons conselhos.

À minha família, por tudo.

# Leucemia Mielóide Crónica: desafios no tratamento da fase blástica.

## A propósito de um caso clínico

### RESUMO

A leucemia mieloide crónica (LMC) caracteriza-se por uma translocação recíproca entre os cromossomas 9 e 22 – cromossoma Filadélfia. Quando não tratada esta neoplasia evolui, com relativa rapidez, de uma fase crónica para acelerada, culminando em fase blástica. Apesar do enorme avanço inerente à descoberta dos inibidores da tirosina cinase, existem casos de resistência com evolução para crise blástica, situação de difícil gestão e prognóstico reservado.

Neste trabalho relata-se uma doente que apresenta de resistência aos três inibidores da tirosina cinase actualmente aprovados, que evolui com cariótipo complexo e uma mutação pontual da ABL, E255K, a qual, neste caso, não aparenta ter tido significado clínico. Assim é posta em causa a relevância deste tipo de mutações no curso da doença. O caso descrito, pelo seu curso, corrobora as actuais hipóteses ineficácia dos inibidores da tirosina cinase em eliminar todas as células leucémicas, e da existência de outras vias de sinalização celular, além da conhecida via tirosina cinase.

Simultaneamente à discussão do caso é feita uma revisão dos mais recentes mecanismos propostos para resistência aos inibidores da tirosina cinase, dos novos marcadores de prognóstico, ainda em investigação, e dos fármacos em actual desenvolvimento.

### ABSTRACT

Chronic Myeloid Leukemia is characterized by the reciprocal translocation between chromosomes 9 and 22 – Philadelphia chromosome. Without treatment this neoplasia would evolve with relative rapidity from chronic to accelerated phase, culminating in a blast crisis. Although tyrosin kinase inhibitors were a major discovery that led to advances in treatment, there are still reported cases of resistance to treatment and evolution to blast crisis, a disease phase of difficult management and poor prognosis.

On this assay, we report a patient resistant to the three tyrosin kinase inhibitors nowadays approved, which develops a complex karyotype and an E255K mutation. In this particular case, this mutation appears not to be of clinical significance. Thus, the clinical relevance of this kind of mutation is found to be questionable. The case here reported corroborates the inability of tyrosin kinase inhibitors in killing all leukemic cells hypothesis, and the theoretical presence of other pathways beyond the described tyrosin kinase pathway.

Simultaneously, is presented a review of recent mechanisms of resistance, new prognostic biomarkers - still under investigation - and new developments in therapy.

### PALAVRAS-CHAVE:

Leucemia Mieloide Crónica;  
Crise Blástica; Resistência  
ITC; Mutação E255K;  
novas vias de sinalização  
celular; novas terapêuticas;  
marcadores de prognóstico

### KEY-WORDS:

Chronic Myeloid Leukemia;  
Blast Crisis; TKI resistance;  
E255K mutation; new  
signaling pathways; new  
treatment; prognostic  
biomarkers

## INTRODUÇÃO

A Leucemia Mieloide Crónica é uma neoplasia mieloproliferativa resultante da expansão clonal<sup>1</sup> da linha granulocítica, com predilecção neutrofílica, de origem na célula tronco hematopoiética pluripotente. É caracterizada por uma translocação recíproca entre os

cromossomas 9 e 22 – t(9;22)(q34;11) – da qual resulta o der(22) – cromossoma *Philadelphia* (Ph). Este cromossoma aloja o gene de fusão *BCR-ABL1*, actualmente tido como factor causal e essencial para a instalação da LMC, principalmente pela produção de uma proteína com actividade tirosina cinase intrínseca<sup>2</sup>. A proteína BCR-ABL1 resultante pode ter peso

molecular variável, dependendo da zona de quebra do gene *BCR*, na região bcr (breakpoint cluster region) do cromossoma 22, sendo que, a zona de quebra de *ABL* é geralmente constante e ao nível do segundo exão (a2). As proteínas mais frequentemente descritas são:

- p210<sup>BCR-ABL1</sup>: quebra na região M-bcr, ao nível de e13 ou e14, para produzir um transcrito e13a2 ou e14a2. Ocorre na maioria dos pacientes com LMC e um terço das LLA de células B Ph+.
- p190<sup>BCR-ABL1</sup>: quebra na região m-bcr, ao nível de e1, produzindo o transcrito e1a2, presente em dois terços das LLA de células B Ph+ e uma minoria de LMC
- p230<sup>BCR-ABL1</sup>: quebra na região  $\mu$ -bcr que origina o transcrito maior, e19a2, documentado em alguns pacientes com Leucemia Neutrofílica Crónica.

Todas as proteínas resultantes possuem actividade tirosina cinase intrínseca aumentada sendo que a de maior calibre é a p190, seguindo-se a p210 e p230, quando quantificadas em ensaio de complexos imunes. As referidas diferenças têm influência no fenótipo da doença associado à translocação e poderão ser preponderantes na resposta à terapêutica com ITC.

A LMC é responsável por cerca de 15 a 20% das leucemias no adulto nos EUA <sup>3</sup>, com uma incidência de 1 a 2 casos por 100.000, e ligeiro predomínio masculino <sup>4-6</sup>, sem predilecção étnica ou geográfica <sup>7</sup>. A idade média de apresentação oscila entre os 60 e 65 anos, na Europa <sup>7</sup>, sendo a exposição a radiação ionizante o único factor de risco conhecido<sup>8,9</sup>. A prevalência tem vindo a aumentar, como resultado das novas terapêuticas.

A LMC caso não tratada ou caso não responda ao tratamento, geralmente evolui para leucemia aguda – crise blástica. Cada uma das fases caracteriza-se por sintomatologia e achados distintos.

A maioria dos doentes, aproximadamente 85%, apresenta-se em fase crónica, sendo que, ao diagnóstico, 20-50% dos doentes são assintomáticos.

Quando sintomáticos, as queixas são maioritariamente inespecíficas e constitucionais – astenia, mal-estar, perda ponderal. A dor ou desconforto abdominal, plenitude abdominal e saciedade precoce podem ocorrer por esplenomegalia. O envolvimento de tecidos extramedulares, como gânglios linfáticos, pele e tecidos moles é restrito à fase blástica da doença.

O hemograma revela leucocitose com nível médio de 100.000/ $\mu$ L. As células da linhagem neutrofílica surgem aumentadas, com picos para os mielócitos e neutrófilos segmentados – hiato leucémico. Basofilia absoluta é um achado constante e eosinofilia surge em 90% dos casos, sendo também comum a monocitose. Apesar de aumentados em número, os granulócitos na fase crónica são morfológicamente normais, sendo que os neutrófilos estão alterados a nível citoquímico, evidenciado por uma fosfatase alcalina leucocitária baixa. A contagem plaquetária pode ser normal ou aumentada. Em cerca de metade dos casos está presente anemia normocítica normocrómica, raramente severa.

O diagnóstico de LMC é estabelecido através da detecção do cromossoma Ph e o seu transcrito. Por rotina, é usada o aspirado de medula óssea com contagem diferencial e análise por citogenética convencional, essencial para a classificação da fase da doença e detecção de anomalias cromossómicas, e análise de medula óssea ou sangue periférico com recurso a PCR, para detecção e caracterização do transcrito em questão. Os métodos de FISH, apesar de não indispensáveis, podem tornar-se úteis nos casos de Ph negativo para detecção de transcritos variantes ou ocultos, segundo as actuais normas da ESMO/OMS <sup>7</sup>. A ELN recomenda o uso dos três métodos diagnósticos, por falha da detecção de transcritos variantes pela RT-PCR <sup>10</sup>.

Após o diagnóstico importa estabelecer em que fase se encontra a doença, sendo que, a fase crónica é aquela que não preenche os critérios para fase acelerada ou blástica (Tabela 1). Importa referir que os maiores estudos que se debruçam sobre os ITC têm por base o sistema de classificação da ELN e que a migração de

	Fase acelerada		Fase blástica	
	OMS <sup>7</sup>	ELN <sup>11</sup>	OMS <sup>7</sup>	ELN <sup>11</sup>
<b>Baço</b>	Esplenomegalia pré-existente ou em evolução que não responde ao tratamento	–	–	–
<b>Leucócitos</b>	Leucocitose (>10x10 <sup>9</sup> /L) pré-existente ou em evolução que não responde ao tratamento	–	–	–
<b>Blastos<sup>a</sup></b>	10% - 19%	15% - 29%	≥ 20%	≥30%
<b>Basófilos<sup>a</sup></b>	>20%	>20%	–	–
<b>Plaquetas</b>	>1000x10 <sup>9</sup> /L, não controlada por tratamento	–	–	–
	<100x10 <sup>9</sup> /L, não relacionado com tratamento	Sim		
<b>ACC/Ph+</b>	Presente	Presente	–	–
<b>Envolvimento extramedular<sup>b</sup></b>	–	–	Presente	Presente

**Tabela I – Fase da LMC<sup>7</sup>**

<sup>a</sup> no sangue periférico ou medula

<sup>b</sup> excluindo fígado e baço. Incluindo nódulos linfáticos, pele, SNC, osso e pulmão

OMS, organização mundial de saúde; ACC/Ph+, anomalias citogenéticas clonais em células Ph+

estadio entre as diferentes classificações tem impacto na sobrevivência.

Com o intuito prognóstico, foram desenvolvidos índices de risco, calculados previamente ao tratamento. Actualmente, para a LMC, estão disponíveis os índices Sokal<sup>12</sup>, Hasford<sup>13</sup> e EUTOS<sup>14</sup> (Tabela II). Os índices de Sokal e Euros foram desenvolvidos na era pré-imatinib. Por outro lado, o índice EUTOS surge já direccionado ao tratamento com imatinib. É um índice que prima pela

simplicidade, tendo em conta apenas duas variáveis, contudo estudos ainda não comprovaram a sua eficácia prognóstica<sup>15,16</sup>. Actualmente ainda não foi comprovada a superioridade de nenhum dos referidos índices, nem há clara evidencia de diferença entre os doentes de baixo e intermédio risco<sup>11</sup>.Ademais, nenhum é indicado para basear decisões clínicas além de uma mais rigorosa monitorização, nos grupos de alto risco<sup>10</sup>.

Estudo	Cálculo	Definição de risco
<b>Sokal et al. 1984<sup>12</sup></b>	$\text{Exp } 0.0116 \times (\text{idade} - 43.4) + 0.0345 \times (\text{baço} - 7.51) + 0.188 \times [(\text{n}^\circ \text{ plaquetas} / 700)^2 - 0.563] + 0.0887 \times (\text{blastos} - 2.10)$	Baixo < 0.8 Intermédio 0.8-1.2 Alto >1.2
<b>Euro</b>	0.666, se idade ≥ 50, + (0.042 x baço) + 1.0956, se plaquetas >	Baixo ≤ 780
<b>Hasford et al 1998<sup>13</sup></b>	1500x10 <sup>9</sup> /L, + (0.0584 x blastos) + 0.20399, se basófilos > 3%, + (0.0413 x eosinófilos) x 100	Intermédio 781 - 1480 Alto > 1480
<b>EUTOS</b>	Baço x 4 + basófilos x 7	Baixo ≤ 87
<b>Hasford et al. 2001<sup>14</sup></b>		Alto > 87

**Tabela II<sup>11</sup>**

Idade em anos. Baço, distância máxima em centímetros abaixo da grade costal. Blastos, eosinófilos e basófilos em valores percentuais da contagem total de leucócitos. Todos os valores devem ser determinados previamente ao tratamento. Os índices podem ser calculados on-line.

A descoberta de inibidores direcionados para a tirosina cinase aberrante, resultante da expressão do *BCR-ABL1*, revolucionou o tratamento da LMC, proporcionando um aumento acentuado das respostas ao tratamento e duração das mesmas, quando comparado com o tratamento padrão pré-imatinib.<sup>17–26</sup>

O tratamento inicial da LMC depende intrinsecamente da fase em que se encontra a doença ao diagnóstico.

Actualmente, para a abordagem inicial de um doente com LMC em fase crónica encontram-se disponíveis e são recomendados o Imatinib 400mg/dia, Dasatinib 100mg dia e o Nilotinib 300mg, duas tomas por dia, sendo os dois últimos ITC de segunda geração<sup>7,11</sup>. O estudo IRIS<sup>27</sup>, direccionado ao tratamento com Imatinib, mostra uma sobrevivência aos 8 anos de 93%, considerando apenas as mortes relacionadas com a LMC. A taxa de progressão da doença após os primeiros três anos é próxima de zero. Os estudos ENESTnd<sup>28</sup> e DASSION<sup>29</sup>, dirigidos ao Nilotinib e Dasatinib, respectivamente, mostraram que estes fármacos são capazes de respostas mais precoces e profundas, contudo sem vantagem comprovada na sobrevivência global. O ponatinib, ITC de terceira geração, está ainda só disponível em contexto de ensaio clínico e caso o doente apresente a mutação pontual t315i na *BCR-ABL1*.

O mecanismo de acção base dos ITC consiste no bloqueio da iniciação da via TC da *BCR-ABL1*<sup>31–36</sup>, somando-se uma acção inibitória sob outras vias de sinalização celular, variável entre os diferentes fármacos. Tanto o Imatinib como o Nilotinib têm capacidade de bloqueio das vias do c-kit e do PDGF, enquanto o Dasatinib e Bosutinib inibem a via Scr cinase. Em específico, o Imatinib liga-se competitivamente ao local de ligação do ATP, inibindo a fosforilação e activação da via tirosina cinase da *ABL*<sup>37–39</sup>. É de realçar que *in vitro* o Dasatinib e o Nilotinib provaram-se acima de 100 vezes mais potentes que o Imatinib<sup>40</sup>. A inibição da expressão de *BCR-ABL1* resulta em cessação da proliferação tumoral sem inibir a formação de colonias normais<sup>41</sup>.

	Leucócitos < 10.000/μL
<b>Resposta hematologia completa</b>	Ausência de granulócitos imaturos Basófilos <5% Plaquetas < 450.000/μL Baço não palpável
<b>Resposta citogenética<sup>a</sup></b>	Ausente >95% Mínima 66 a 95% Minor 36 a 65% Major 1 a 35% Completa <1% <sup>b</sup>
<b>Resposta molecular<sup>c</sup></b>	MR <sup>3</sup> redução ≥ log 3 MR <sup>4</sup> redução ≥ log4 MR <sup>4.5</sup> redução ≥ log 4.4 <sup>d</sup>

**Tabela III – Resposta ao tratamento**<sup>11,30</sup>

<sup>a</sup> Percentagem de células Ph+. Determina-se por citologia convencional de pelo menos 20 células de medula em metáfase.

<sup>b</sup> A resposta citogenética completa também pode ser determinada por FISH de células periféricas, através da análise de 200 núcleos em metáfase, que revelem <1% de núcleos positivos para *BCR-ABL1*.

<sup>c</sup> Determina-se através de PCR quantitativo de sangue periférico. O nível de resposta é quantificado na escala internacional, uma escala logarítmica do quociente de transcritos *BCR-ABL1* por transcritos *ABL*, ou outro controle internacionalmente reconhecido. O termo resposta molecular completa, definida por doença indetectável em ensaio sensível na ordem de log4 a log 5, foi descontinuada com o desenvolvimento de métodos de PCR mais sensíveis. O avanço da tecnologia elucidou que poderá ficar presente um grau residual de doença.

<sup>d</sup> Ou doença indetectável à análise de cDNA com mais de 32.000 transcritos de *ABL* – doença molecularmente indetectável

	Óptima	“Aviso”	Falência
Diagnóstico	NA	ACC (major <sup>a</sup> )/Ph+	NA
3 meses	BCR/ABL1 <10% e/ou Ph+ <35%	BCR/ABL1 >10% e/ou Ph+ 36-95%	Ausência de RHC e/ou Ph >95%
6 meses	BCR/ABL1 <1% e/ou Ph+0	BCR/ABL1 1-10% e/ou Ph+ 1-35%	BCR/ABL1 >10% e/ou Ph+ >0
12 meses	BCR/ABL1 ≤ 0.1%	BCR/ABL1 >0.1-1%	BCR/ABL1 >1% e/ou Ph+ >0
Após os 12 meses	BCR/ABL1 ≤ 0.1%	ACC/Ph- (-7 ou 7q-)	Perda de RHC, RCC, MMR; mutações; ACC/Ph+

**Tabela IV – Monitorização da resposta terapêutica**<sup>11</sup>

<sup>a</sup>Mutações major: trissomia do 8, isocromossoma 17q, cromossoma Ph adicional e trissomia do 19

NA, não aplicável; ACC/Ph+, anomalias citogenéticas em células Ph+; RHC, resposta hematológica completa; RCC, resposta hematológica completa; MMR, resposta molecular major; ACC/Ph-, anomalias citogenéticas em células Ph-.

Os critérios de quantificação de resposta molecular já foram modificados, consequência o desenvolvimento de métodos de avaliação mais sensíveis. Contudo os critérios de monitorização ainda não foram actualizados e foi por estes que o caso que se segue foi regido.

A monitorização da resposta terapêutica é de suma importância uma vez que permite a detecção precoce de ineficácia e alteração do plano terapêutico para ITC alternativo ou transplante. A monitorização, de acordo com a ELN, tem por base critérios de resposta hematológica, citogenética e molecular<sup>11</sup>. (Tabela III), com metas a atingir aos 3, 6 e 12 meses (Tabela IV). Com o cumprimento das metas estabelecidas é esperada uma elevada taxa de resposta ao tratamento e uma alta taxa de sobrevida livre de doença, por tempo prolongado<sup>42</sup>, sem evolução para crise blástica.

A crise blástica diagnostica-se primordialmente pela presença de mais de 20%, segundo a OMS<sup>7,43</sup>, e 30%, segundo a ELN<sup>11</sup>, de blastos no sangue periférico, em doente com LMC (Tabela I). Outros achados também definidores de crise blástica, em doente com LMC, são a presença de grandes aglomerados de blastos na biopsia de medula óssea e presença de infiltrados blásticos extramedulares, como o cloroma (sarcoma granulocítico)<sup>43</sup>, presente no caso em questão.

Existem duas principais formas de crise blástica na LMC, linfóide e mieloide, que respondem a diferentes esquemas terapêuticos. A crise blástica mieloide corresponde a cerca de 70% dos casos e não apresenta boa resposta a esquemas quimioterápicos de indução padrão usados na LMA, contrariamente à crise linfóide<sup>44-46</sup>. Foram reportadas taxas de resposta

mais favoráveis com ITC em monoterapia<sup>47-49</sup> ou em combinação com agentes quimioterápicos<sup>50</sup>. É importante realçar que uma crise do tipo linfóide tem predileção pelo SNC (Tabela VI), pelo que se justifica tratamento com Dasatinib, o único ITC conhecido que atravessa a BHE. Assim, o tratamento da crise blástica depende do tratamento prévio e do tipo de leucemia<sup>51</sup>.

O transplante alogénico de medula óssea continua a ser o único tratamento potencialmente curativo da LMC, reservado a doentes com resistência aos ITC. É um procedimento, no entanto, associado a um elevado grau da morbi-mortalidade e de aplicabilidade restrita. Na elegibilidade para transplante pesam vários factores, de modo a obter a melhor relação risco-benefício (Tabela V). A partir dos 40 anos de idade o transplante é causa de uma elevada taxa de mortalidade associada aos esquemas de indução padrão. Para estas faixas etárias poderá ser oferecida uma terapêutica de indução menos agressiva que a padrão, apenas se houver dador familiar compatível. O transplante é uma solução oferecida quando há resistência a pelo menos um ITC de segunda geração, caso seja candidato para tal.

Os excelentes resultados obtidos com os ITC, associados a reduzida morbi-mortalidade, remeteram o transplante para segundo plano.

Factor de risco	0 points	1 point	2 points
Idade	< 20	20 - 40	> 40
Fase da doença	crónica	acelerada	blástica
Tempo diagnostico – transplante (M)	< 12	> 12	-
Dador	Irmão HLA-idêntico	Não relacionado	-
Sexo dador/beneficiário	Outra combinação	Feminino/masculino	

**Tabela V – índice de risco prévio ao transplante alogénico de células estaminais<sup>52</sup>**

Ao somatório de pontos corresponde uma percentagem probabilística de sobrevivência global aos 5 anos e de morte relacionada com o tratamento, diferentes para transplante com terapia mieloablativa ou não-mieloablativa.



## CASO CLÍNICO

Doente do sexo feminino, caucasiana, de 55 anos de idade, diagnosticada com LMC, em Janeiro de 2008, na sequência de análises de rotina. O hemograma apresentava leucocitose de 23.000/ $\mu$ L, com 16.2600/ $\mu$ L de neutrófilos, 3.500/ $\mu$ L de linfócitos, 2.810/ $\mu$ L de monócitos, 320/ $\mu$ L eosinófilos, 120/ $\mu$ L de basófilos, blastos indetectáveis, 257.000/ $\mu$ L plaquetas e 13,1 g/dL de hemoglobina. Ao diagnóstico a doente apresentou-se assintomática e sem alterações ao exame físico. Tinha, como co-morbilidades, insuficiência venosa periférica e história cirúrgica de histerectomia com anexectomia e remoção do menisco por patologia do joelho direito. O índice de Sokal pontuava 0.67, e o Hasford 670.72, indicativos de baixo risco. Foi inicialmente tratada com Imatinib 400mg. Obteve-se RCC aos 6 meses e RMM aos 18. Manteve tratamento com Imatinib com boa tolerância e adesão.

Após 34 meses de tratamento, Novembro de 2010, a doente evoluiu para crise blástica com leucocitose de 23.420/ $\mu$ L, 35,5% de blastos, 5.970/ $\mu$ L neutrófilos, 8.580/ $\mu$ L linfócitos, 5.970 / $\mu$ L monócitos, sem eosinófilos e basófilos detectáveis, 88.000/ $\mu$ L plaquetas e com 10.4 g/dL de hemoglobina. À análise citogenética apresentava um cariótipo complexo – 48~49 XX der(9) t(9;22)(q34;q11); +12; der(16) t(16;18)(q11,2;q12); -18; +21; -22; +2~3mar [20] – sem mutação no domínio TC da ABL. Pela imunofenotipagem, os blastos exibiam linhagem ambígua. Esta CB condicionou alteração do tratamento para Dasatinib 70mg, duas vezes ao dia, com obtenção de RCC aos 6 meses (Junho 2011). Foi iniciada a pesquisa de dador familiar compatível, sem sucesso.

Treze meses depois, Dezembro de 2011, verificou-se uma nova recaída para fase blástica com 8.900/ $\mu$ L leucócitos, 25,5% de blastos, 980 / $\mu$ L neutrófilos, 4.720 / $\mu$ L linfócitos, 800/ $\mu$ L monócitos, 11.700/ $\mu$ L plaquetas e 9.0g/dL de hemoglobina. Nesta segunda recaída foi detectada a mutação E255K. Observou-se rápido agravamento com 56% de blastos, anemia, neutropenia, trombocitopenia e hépato-esplenomegalia, com necessidade de intrenamento para citorredução

com Citarabina. Teve alta após 10 dias com normalização dos parâmetros hematológicos e melhoria do quadro pelo que manteve o tratamento com Dasatinib, na mesma posologia, entrando novamente em FC.

Uma nova crise blástica foi diagnosticada em Novembro de 2012, 9 meses após a remissão da anterior. A doente apresentava cloromas cutâneos, laríngeos e oculares. O hemograma revelou leucocitose de 60.4800/ $\mu$ L com 66% de blastos, 6.050/ $\mu$ L neutrófilos, 10.280/ $\mu$ L linfócitos, 3.630 monócitos, 41.000/ $\mu$ L plaquetas e com 9.5g/dL de hemoglobina. Em Março de 2013 alterou o ITC para Nilotinib 400mg/dia, por ausência de mutação E255K detectável e falência da resposta ao Dasatinib. Não se verificou resposta ao Nilotinib. Fez várias transfusões de concentrado de eritrócitos devido a anemia recorrente. Documentou-se a progressão dos cloromas cutâneos multifocais, oculares, associados a diminuição da acuidade visual, e laríngeos, que causam disfonia, estridor e dispneia. Iniciou metilprednisolona e Hidroxilureia

Obteve uma melhoria clínica inicial, contudo veio a falecer a 11 de Agosto de 2013, 5 anos e 7 meses após o diagnóstico inicial.

## DISCUSSÃO

O caso acima exposto refere-se a uma doente portadora de LMC com uma boa adesão ao tratamento, sem efeitos laterais relevantes, que, apesar da obtenção de uma resposta inicial, concordante com os critérios estabelecidos pela ELN<sup>11</sup>, após 34 meses, evolui para crise blástica,.

Ainda não existe nenhum método fidedigno actual que oriente a escolha do ITC de primeira linha. Os ITC têm perfis diferentes e tudo aponta para que haja um ITC melhor para cada doente em particular. Para já essa escolha é feita tendo em conta a idade, objectivos terapêuticos e co-morbilidades<sup>53</sup>. Não é possível determinar mas talvez, neste caso em específico, a doente beneficiasse de um outro ITC como tratamento de primeira linha.

A falência do tratamento instituído deve sempre suscitar a dúvida quanto ao cumprimento do regime terapêutico por parte do doente e/ou o aparecimento de mutações que lhe confirmam resistência. Deve seguir-se uma análise mutacional de *BCR-ABL1*, que poderá auxiliar na escolha do ITC de segunda geração, e o início da pesquisa de um dador compatível, processo geralmente moroso.

A resistência a estes fármacos surge actualmente como o obstáculo a vencer no tratamento da LMC. Esta é dividida em primária, o doente não cumpre as metas estabelecidas de resposta ao tratamento, e secundária, na qual se verifica uma recaída após obtenção de resposta inicial satisfatória<sup>54</sup>.

No que concerne à resistência secundária, presente no caso relatado, os mecanismos propostos são variados mas genericamente envolvem reactivação da via TC da *BCR-ABL1* e/ou activação de outras vias de sinalização<sup>54,55</sup>. Maioritariamente a resistência ao Imatinib ocorre por reactivação da via TC da *BCR-ABL1* que poderá ser consequência de uma sobre-expressão génica, excreção do fármaco por transportadores transmembranares e, maioritariamente, mutações pontuais que alteram a conformação e conferem novas propriedades biológicas ao transcrito de *BCR-ABL1*<sup>40,56-58</sup>. De entre as mais de 50 mutações conhecidas destacam-se, pela sua mais elevada frequência, as mutações no local de ligação do ATP (ansa fosfato), e as mutações T315I, no domínio catalítico. No caso aqui em discussão, a mutação E255K trata-se de uma mutação na ansa fosfato da *BCR-ABL1*, por substituição do ácido glutâmico por lisina na posição 255, que, pelo mecanismo de acção, confere resistência ao Imatinib<sup>59</sup>.

Não se sabe exactamente a génese das mutações que conferem resistência aos fármacos. Até à presente data foram propostas duas origens: a presença de um pequeno conjunto de células já mutadas que sofrem selecção sob Imatinib, e auto-mutagénese induzida pela acção continuada da cinase *BCR-ABL1*, através de espécies de oxigénio reactivas<sup>60-62</sup>. Foi também verificado que não só o imatinib poderá levar à

selecção de mutações. Diferentes e novas mutações surgiram com a pressão seletiva dos ITC de segunda geração<sup>61</sup>. A outra proposta explicação baseia-se na inexistência de um conjunto de células Ph- suficiente para restabelecer a hematopoiese<sup>63</sup>.

Os diferentes fármacos actualmente disponíveis para tratamento de LMC têm já actividade conhecida face a determinadas mutações (Tabela VI). Assim, tendo por base o perfil mutacional da *BCR-ABL1*, é já possível, em parte dos casos, instituir uma terapêutica dirigida à mutação<sup>64</sup>.

No caso reportado foi descoberta uma mutação apenas sensível ao Dasatinib. Realça-se que esta mutação surge com uma segunda crise blástica, sob tratamento prévio com Dasatinib. Pela natureza da mutação, o tratamento com Dasatinib é continuado e, na terceira crise, a mutação torna-se indetectável.

A pesquisa pré-terapêutica de mutações, em fase crónica, está actualmente contra indicada<sup>64</sup>, tendo por base estudos que demonstram que apenas uma pequena percentagem de casos são <sup>51</sup>mutação-positivos<sup>65</sup>. Um outro estudo provou, com recurso aos métodos mais sensíveis actuais, que a presença de mutações no domínio TC, em níveis baixos, não se correlaciona invariavelmente com falência terapêutica<sup>65</sup>. A monitorização de alterações genéticas em doentes que cumprem todas as metas terapêuticas é também desaconselhada por apenas ser encontrada num reduzido número de casos<sup>66,67</sup>, apesar de, caso

Fármaco	Mutação
Dasatinib	Y253H
	E255K/V
	F359 C/I/V
Nilotinib	V299L
	T315A
	F317C/I/L/V
Ponatinib, TCH, outros fármacos experimentais	T315I

**Tabela VI – Actividade dos fármacos actuais em mutações da *BCR/ABL1***<sup>11,64</sup>

O Imatinib tem baixa actividade contra todas estas mutações.  
TCH, transplante de células hematopoiéticas.

seja encontrada uma mutação, esta esteja altamente relacionada com perda de RCC<sup>66</sup>. Assim sendo, a análise de mutações é apenas recomendada no caso de resposta alarmante, falência terapêutica ou fase acelerada ou blástica, ao diagnóstico<sup>64</sup>.

No caso reportado, a referida análise foi realizada a cada crise blástica. À imunofenotipagem, as crises blásticas eram de linhagem ambígua.

A evolução de uma fase crónica para uma fase blástica pressupõe instabilidade genética e aquisição de mutações genéticas adicionais, como a trissomia do 8, isocromossoma 17q, cromossoma Ph adicional e trissomia do 19. As referidas aberrações genéticas são encontradas em até 80% dos doentes em CB e são actualmente consideradas alterações major, associadas à patogenia de CB. As demais aberrações, como aberrações do cromossoma 3, deleção do Y, são consideradas minor. Estas são menos prováveis de estarem envolvidas na patogénese da crise blástica contudo são indicativas de instabilidade genética<sup>51</sup>. A existência de ACC major ao diagnóstico tem comprovado impacto prognóstico negativo<sup>68</sup>. Estas anomalias, quando surgem, sob tratamento, em células Ph+ (ACC/Ph+) – evolução citogenética clonal – são indicativas de falha terapêutica<sup>11</sup> e estão associadas a uma menor sobrevivência global, sob Imatinib<sup>69</sup> e em tratamento de segunda linha com ITC de segunda geração, após falha de Imatinib<sup>70</sup>. Caso sucedam em células Ph- (ACC/Ph-) e na ausência de displasia, não aparenta ter influência directa na sobrevivência. Exceptuam-se as anomalias do cromossoma 7 pois já foram reportados casos de associação a mielodisplasia e leucemia aguda<sup>11</sup>.

No caso em questão foi descrito um cariótipo complexo, que não englobava as ACC major. No entanto, a presença de cariótipo complexo está também associada a mau prognóstico<sup>51</sup>.

Outras anomalias genéticas encontram-se também relacionadas com a progressão da LMC para crise blástica. As já referidas mutações no domínio TC<sup>71</sup> são detectadas em 50% dos casos de progressão<sup>11</sup> e em até 80% das CB<sup>51</sup>. Mutações na p53 ocorrem em

aproximadamente 24% das CB mieloides e alterações na p16 em aproximadamente 50% das crises linfoides<sup>51</sup>. Dos factores indicativos de progressão supracitados apenas se verificou, como referido, a presença da mutação E255K, na segunda crise blástica, que, numa terceira crise, não é detectada.

Vários factores foram associados com um ainda pior prognóstico, uma vez instalada a CB – evolução clonal; mais de 50% de blastos, plaquetas elevadas; pequena duração da FC e doença extra-medular. Entre os referidos factores de risco, a doente apresenta, na terceira crise blástica mais de 66% de blastos, doença extra medular (cloromas cutâneos, oculares e laríngeos). Foi também notória uma progressivamente menor duração das fases crónicas.

De um modo geral a fase blástica é refratária ao tratamento, apesar das melhores respostas alcançadas com os ITC. Como factor causal, foi proposta a aquisição de independência da actividade da *BCR-ABL1*, por parte das células leucémicas, via instabilidade genética e mutações, inerente à evolução para CB. Foi realçado que, na crise blástica, há uma alteração na diferenciação celular para formas mais imaturas, tendo por base uma sobre-expressão da via Wnt/ $\beta$ catenina por progenitores granulócito-macrofago<sup>72,73</sup>. A via Wnt/ $\beta$ catenina é inerente às células estaminais hematopoiéticas, participando na sua capacidade de auto-renovação<sup>74</sup>. Deste modo a sobre expressão desta via aumentará a capacidade de auto-renovação e o potencial leucémico<sup>72</sup>. Ademais, está comprovada a existência, de um conjunto de células estaminais, CD34+, progenitoras da LMC, resistentes ao tratamento com ITC, apesar de todos os avanços terapêuticos. Estas células existem durante todo o curso da LMC, encontrando-se num estado quiescente na FC.<sup>75-78</sup>

Assim sendo, o transplante alogénico de células progenitoras é o tratamento preferido, caso o doente seja elegível para tal. É notório um aumento na sobrevivência quando o transplante é realizado em fase crónica<sup>51</sup>. Assim, a abordagem mais eficaz de uma crise blástica será a indução de uma segunda fase

crónica, seguida de transplante. A doente relatada não foi considerada para transplante pela sua idade que em combinação com a ausência de dador familiar compatível originava um elevado risco. Tendo por base o índice de risco supracitado (Tabela V), o caso em questão, após indução de nova FC, soma 5 pontos ao que corresponde, para transplante mieloablativo uma probabilidade sobrevivência de 24% aos 5 anos e uma mortalidade de 47%. Para transplante não mieloablativo os valores seriam de 32 e 33%, respectivamente.

Para os casos não elegíveis para transplante e tratando-se de uma evolução que ocorreu sob Imatinib, a base do tratamento prender-se-á com um ITC de segunda geração. A escolha do ITC entre os disponíveis tem por base o perfil de co-morbilidades do doente em questão e o perfil genético (Tabela VI). No caso em discussão, como já referido, a terapêutica actualmente recomendada é o Dasatinib, não havendo ainda estudos quanto à eficácia do Ponatinib. Após tratamento com Dasatinib, a doença evoluiu para uma terceira CB, apesar de a mutação não ter sido detectada..

Motivada pela falta de resposta à terapêutica e pela consequente falta de recursos para o tratamento da crise blástica, vários estudos foram e encontram-se a ser conduzidos. Foram estudadas várias combinações de Imatinib 600 a 800mg com quimioterápicos como Etoposídeo, Decitabina, Citarabina e Idarrubicina, Lonafernib. Nenhuma destas combinações se provou mais eficaz que Imatinib em monoterapia<sup>51</sup>.

Encontra-se também em estudo uma terceira geração de ITC, onde se destaca o Ponatinib, com eficácia já referida para a mutação T315I, que também demonstrou ter actividade na fase blástica<sup>79</sup>. Foi também recentemente desenvolvido um outro fármaco, com acção inibitória sob o domínio *switch pocket*, local de ligação de mediadores que alteram a conformação da TC para activo ou inactivo. O fármaco experimental DCC-2036 encerra o domínio TC na sua conformação inactiva. Mostrou eficácia no tratamento da crise blástica, num estudo<sup>80</sup>, e eficácia no tratamento da FC,

inibindo o aparecimento de novas mutações, sozinho e em combinação com ITC de segunda geração<sup>81</sup>.

Para contornar a resistência instituída pelas mutações no domínio tirosina cinase, foram desenvolvidos fármacos com diferentes alvos terapêuticos. O *omacetaxine mepesuccinate* (Synribo®) é um fármaco já aprovado pela FDA americana para o tratamento de doentes em crise blástica com resistência a pelo menos dois ITC, contudo ainda não se encontra aprovado em Portugal. O mecanismo de acção centra-se na inibição da tradução proteica a partir do mRNA. Este fármaco mostrou-se eficaz no tratamento da LMC, independentemente da presença de mutações<sup>82</sup>.

Estudos conduzidos em doentes em crise blástica, elucidaram a presença de uma sobre-expressão de proteínas inibitórias da PP2A – SET e CIP2A. Uma menor actividade da PP2A conduz ao aumento da via de sinalização *BCR-ABL*<sup>83,84</sup>. O OP449, antagonista da proteína SET, tem citotoxicidade selectiva para as células da LMC e restaura a actividade supressora tumoral da PP2A<sup>85</sup>. Um estudo recente mostrou que este fármaco, sozinho ou em combinação com ITC, inibe o crescimento de células da LMC, incluindo casos de FB<sup>85</sup>. O activador da PP2A, FTY720, induz apoptose em casos de CB e LLA Ph+<sup>86</sup>. Por fim, a inibição de CIP2A leva ao aumento da actividade PP2A<sup>84</sup>.

Uma outra abordagem experimental para o tratamento ou prevenção de CB consiste em impedir a auto-renovação das células leucémicas progenitoras. O oncogene BCL6 está frequentemente envolvido na génese de leucemias agudas e foi implicado na LMC: permite que, numa leucemia linfoblástica aguda Ph+, as células evadam a acção dos ITC. Foi demonstrado que *in vitro*, a inibição da BCL6 em combinação com ITC elimina as células progenitoras de leucemia<sup>87</sup>. Na mesma linha investigacional, foi proposto que o HIF1α é necessário à manutenção das células estaminais leucémicas, estando a sua expressão aumentada nas células Ph+. No mesmo estudo foi comprovado que a inibição do HIF1α conduz à redução de células leucémicas estaminais<sup>88</sup>.

Várias vias de sinalização intracelular, independentes da TC, foram implicadas no desenvolver da LMC (Tabela VII). Teoricamente, a inibição de tais vias será uma mais-valia ou talvez um novo caminho no tratamento da LMC. Actualmente está descrito que a inibição de proteínas implicadas na via Hedgehog, em combinação com ITC de segunda geração, tem actividade na CB e na auto-renovação de células estaminais leucémicas. Os fármacos inibidores destas proteínas são a ciclopamina, GDC-0449, LDE225, BMS833923, ou PF0444913.

Uma outra via terapêutica, também ainda experimental, é a indução da apoptose de células da CB. Encontram-se em estudo inibidores da *BCL2*, em combinação com ITC ou triptolida<sup>89,90</sup>; os inibidores da MEK em combinação com um inibidor da farnesiltransferase<sup>91</sup>; a estabilização da p53<sup>92</sup>; e a inibição dupla da via Jak2/TC pelo recém-descoberto ON044580<sup>93</sup>.

O caso em discussão poderia ter beneficiado da participação num estudo clínico. Contudo, no momento não decorria nenhum ensaio clínico passível de ser integrado pela doente.

Inúmeros fármacos encontram-se em estudo com resultados promissores, contudo, actualmente, poucos estão aprovados para o tratamento da LMC, independentemente da fase. É de realçar que apenas o ponatinib, quimioterápicos e o *omacetaxine* se encontram disponíveis para uso humano. Uma abordagem consensual é a prevenção da evolução para crise blástica através de um tratamento agressivo inicial, o mais precoce possível, de modo a reduzir o número de células Ph+ ao máximo<sup>51</sup>. Os casos que alcançaram o equivalente a RMM gozam de durabilidade de resposta com baixa progressão da doença<sup>51</sup>. Este modo de abordagem tem, todavia, limitações na sua validade. A já referida existência de um conjunto de células CD34+ quiescentes poderá evadir o tratamento actual com ITC e impedir a erradicação da doença, podendo conduzir a eventual recaída. Outra teoria proposta baseia-se na presença de uma instabilidade genética prévia, responsável pelo aparecimento do BCR-ABL1, a qual também conduz a

uma variabilidade genética que possibilita a evasão ao tratamento<sup>61</sup>. O caso reportado é um claro exemplo da não total viabilidade desta premissa – apesar de se ter obtido uma resposta profunda e precoce e apesar da óptima tolerância e adesão ao tratamento, verificou-se a evolução repetida para fase blástica, conduzindo à morte da doente.

Assim sendo, surge o desafio de identificar precocemente os pacientes em risco de evolução para crise blástica. Os índices de risco (Tabela II) são uma ferramenta passível de ser usada mas com utilidade limitada, como já referido. Outros factores independentes preditivos de risco de progressão são a presença do transcrito p190<sup>BCR-ABL1</sup> e a detecção de sinais de aceleração. A já referida evolução clonal, indicativa de falha terapêutica segundo a ELN, é outro marcador de maior risco de progressão. No que a ela diz respeito, tanto as ACC major como os cariótipos complexos, como este caso, aparentam estar associados a pior prognóstico e elevado risco de progressão<sup>51</sup>.

Por outro lado, vários marcadores biológicos estão sob estudo, como indicadores de evolução da LMC. A análise do IC<sub>50</sub> *in vitro*, correlaciona baixos níveis com uma RM precoce, sob Imatinib, *in vivo*. Ainda não foram realizados estudos que correlacionem a IC<sub>50</sub> com outros<sup>94</sup> ITC. O OCT-1 é principal bomba de influxo

Vias de sinalização	Função normal
<b>Wnt/Beta-catenina</b>	Desenvolvimento das células estaminais hematopoiéticas
<b>Hedgehog</b>	Critico para a hematopoiese primitiva
<b>Alox5</b>	Resposta a stress oxidativo, inflamação
<b>PTEN</b>	Sobrevivência celular e crescimento
<b>FoxO</b>	Paragem do ciclo célula; resistência ao stress e apoptose

**Tabela VII – vias de sinalização tirosina cinase independentes implicadas na LMC**

responsável pela entrada do Imatinib nas células leucémicas<sup>95</sup>. Níveis de actividade desta bomba, medidos previamente ao tratamento, demonstraram uma forte correlação preditiva de níveis altos com a RM e a sobrevivência livre de eventos, quando usado o Imatinib<sup>96,97</sup>. Por outro lado, o CIP2A, já supracitado, surgiu em elevados níveis celulares ao diagnóstico em pacientes que mais tarde sofreram progressão<sup>84</sup>. Um outro achado foi que a deleção de um par de bases no gene *BIM*, pertencente à super-família *bcr2*, correlaciona-se com resistência ao imatinib<sup>98</sup>. Mais de dois terços dos casos com deleção mostraram-se resistentes ao Imatinib, contudo esta alteração raramente é encontrada fora da Ásia.

Estudos genéticos de casos de LMC têm sido conduzidos no sentido de associar perfis genéticos a risco de progressão. Já foram propostos vários perfis promissores contudo há ainda pouca concordância entre diferentes estudos<sup>53</sup>, exceptuando-se a via Wnt/Beta-catenina<sup>99,100</sup>.

## CONCLUSÃO

Apesar do enorme avanço no tratamento da LMC, com a descoberta dos ITC, existem ainda casos com desfecho fatal. Para evitar a progressão da doença, metas terapêuticas rigorosas foram implementadas sob a ideia de que uma redução drástica e precoce da contagem de células Ph+ seria a resposta para evitar a progressão da doença. Isto verifica-se numa maioria dos casos, contudo em determinados doentes, como aqui descrito, esta premissa não é verdadeira.

Este caso em específico levanta também questões sobre o papel central e transversal atribuído às mutações no domínio tirosina cinase na resposta à terapêutica com ITC. Aqui reporta-se um caso no qual

a mutação E255K não aparenta ter um papel fulcral na evolução fatal da LMC, pelo seu carácter flutuante e responsivo ao Dasatinib – surge e tornar-se indetectável sob Dasatinib.

Deste modo, é questionável a dependência exclusiva, na patofisiologia da LMC, da actividade tirosina cinase da *BCR-ABL*<sup>178</sup>. Pode considerar-se que é notória uma falha na total compreensão de todos os mecanismos patofisiológicos resultantes mutação t(9;22)(q34;11).

É também passível de pôr em causa a capacidade dos ITC em eliminar as células Ph+ na sua totalidade, apesar de a doença se tornar molecularmente indetectável, pela existência, já comprovada, de células CD34+ quiescentes. Assim sendo, e para o futuro, o tratamento da LMC poderá evoluir para a eliminação destas células estaminais progenitoras da leucemia, hipótese que se encontra já em estudo.

Num futuro próximo, o tratamento da LMC poderá basear-se no desenvolvimento de fármacos cada vez mais eficazes no combate às diferentes mutações em descoberta, e na optimização desse tratamento, maximizando a prevenção da evolução para crise blástica. Para tal, os índices de risco actuais ainda se encontram aquém do óptimo na sua capacidade preditiva de resposta ao tratamento e consequente evolução da doença. Este facto é corroborado por este caso uma vez que a doente apresentava um Sokal e Hasford de baixo risco, no entanto, com evolução fatal. Importa o desenvolvimento de índices mais confiáveis, tendo por base novos marcadores em descoberta. Põe-se também a possibilidade de evolução na capacidade de detecção de anomalias genéticas, podendo este método ser usado para detecção precoce de evolução da doença.

## LISTA DE ABREVIATURAS

ABL1, *Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1*

ACC, anomalias citogenéticas clonais

ACC/Ph+, anomalias citogenéticas clonais em células com o cromossoma Filadélfia

ACC/Ph-, anomalias citogenéticas clonais em células sem o cromossoma Filadélfia

ATP, *adenosine triphosphate*

BCL2 *B-cell lymphoma 2*

BCL6, *B-cell lymphoma 6*

BCR, *breakpoint cluster region*

BHE, barreira hemato-encefálica

CB, crise blástica

CD 34, cluster differentiation 34

CIP2A, *cancerous inhibitor of phosphatase 2A (PP2A)*

ELN, *European Leukemia Net*

ESMO, *European Society for Medical Oncology*

EUA, Estados Unidos da América

FB, fase blástica

FC, fase crónica

FDA, *Food and Drug Administration* (EUA)

IC50, *inhibitory concentration*

ITC, inibidores da tirosina cinase

JAK2, *janus kinase 2*

HIF1 $\alpha$ , *hypoxia independent factor 1 $\alpha$*

LEC, líquido encéfalo-raquidiano

LLA, leucemia linfocítica aguda

LMC, leucemia mielóide crónica

MEK/MKK, Mitogen-activated protein kinase kinase

mRNA, *messenger ribonucleic acid*

OMS, Organização Mundial de Saúde

PCR, *polymerase chain reaction*

PDGF, *platelet-derived growth factor*

Ph, cromossoma Filadélfia

PP2A, *protein phosphatase 2A*

RC, resposta citogenética

RCC, resposta citogenética completa

RM, resposta molecular

RMM, resposta molecular major

SNC, sistema nervoso central

TC, tirosina cinase



## BIBLIOGRAFIA

1. Fialkow PJ, Jacobson RJ, Papayannopoulou T. Chronic myelocytic leukemia: clonal origin in a stem cell common to the granulocyte, erythrocyte, platelet and monocyte/macrophage. *Am J Med.* 1977;63(1):125-30. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/267431>. Accessed May 22, 2014.
2. Deininger MWN, Goldman JM, Melo J V. The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood.* 2000;96(10):3343-3356. Available at: <http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/96/10/3343.long>. Accessed May 22, 2014.
3. Siegel R, Ma J, Zou Z, Jemal A. Cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin.* 64(1):9-29. doi:10.3322/caac.21208.
4. Sant M, Allemani C, Tereanu C, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood.* 2010;116(19):3724-34. doi:10.1182/blood-2010-05-282632.
5. Smith A, Howell D, Patmore R, Jack A, Roman E. Incidence of haematological malignancy by sub-type: a report from the Haematological Malignancy Research Network. *Br J Cancer.* 2011;105(11):1684-92. doi:10.1038/bjc.2011.450.
6. Chen Y, Wang H, Kantarjian H, Cortes J. Trends in chronic myeloid leukemia incidence and survival in the United States from 1975 to 2009. *Leuk Lymphoma.* 2013;54(7):1411-7. doi:10.3109/10428194.2012.745525.
7. Baccarani M, Pileri S, Steegmann J-L, Muller M, Soverini S, Dreyling M. Chronic myeloid leukemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2012;23 Suppl 7(suppl\_7):vii72-7. doi:10.1093/annonc/mds228.
8. Moloney WC. Radiogenic leukemia revisited. *Blood.* 1987;70(4):905-8. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3477299>. Accessed May 22, 2014.
9. Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, O'Brien S, Kurzrock R, Kantarjian HM. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 1999;341(3):164-72. doi:10.1056/NEJM199907153410306.
10. Cortes J, Kantarjian H. How I treat newly diagnosed chronic phase CML. *Blood.* 2012;120(7):1390-7. doi:10.1182/blood-2012-03-378919.
11. Baccarani M, Deininger MW, Rosti G, et al. European LeukemiaNet recommendations for the management of chronic myeloid leukemia: 2013. *Blood.* 2013;122(6):872-84. doi:10.1182/blood-2013-05-501569.
12. Sokal JE, Cox EB, Baccarani M, et al. Prognostic discrimination in "good-risk" chronic granulocytic leukemia. *Blood.* 1984;63(4):789-99. Available at: <http://bloodjournal.org/content/63/4/789.abstract>. Accessed May 25, 2014.
13. Hasford J, Pfirrmann M, Hehlmann R, et al. A New Prognostic Score for Survival of Patients With Chronic Myeloid Leukemia Treated With Interferon AlfaWriting Committee for the Collaborative CML Prognostic Factors Project Group. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 1998;90(11):850-859. doi:10.1093/jnci/90.11.850.
14. Hasford J, Baccarani M, Hoffmann V, et al. Predicting complete cytogenetic response and subsequent progression-free survival in 2060 patients with CML on imatinib treatment: the EUTOS score. *Blood.* 2011;118(3):686-92. doi:10.1182/blood-2010-12-319038.
15. Eliasson L, Clifford S, Barber N, Marin D. Exploring chronic myeloid leukemia patients' reasons for not adhering to the oral anticancer drug imatinib as prescribed. *Leuk Res.* 2011;35(5):626-30. doi:10.1016/j.leukres.2010.10.017.

16. Jabbour E, Cortes J, Nazha A, et al. EUTOS score is not predictive for survival and outcome in patients with early chronic phase chronic myeloid leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors: a single institution experience. *Blood*. 2012;119(19):4524-6. doi:10.1182/blood-2011-10-388967.
17. Brazier RM, Launder TM, Druker BJ, et al. Hematopathologic and cytogenetic findings in imatinib mesylate-treated chronic myelogenous leukemia patients: 14 months' experience. *Blood*. 2002;100(2):435-41. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12091333>. Accessed May 1, 2014.
18. Deininger MW, O'Brien SG, Ford JM, Druker BJ. Practical management of patients with chronic myeloid leukemia receiving imatinib. *J Clin Oncol*. 2003;21(8):1637-47. doi:10.1200/JCO.2003.11.143.
19. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, et al. Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med*. 2001;344(14):1031-7. doi:10.1056/NEJM200104053441401.
20. Hasserjian RP, Boecklin F, Parker S, et al. ST1571 (imatinib mesylate) reduces bone marrow cellularity and normalizes morphologic features irrespective of cytogenetic response. *Am J Clin Pathol*. 2002;117(3):360-7. doi:10.1309/NR81-VCU0-CKW1-4HT9.
21. Hess G, Meyer RG, Schuch B, Bechtold K, El-Kholy I, Huber C. Sustained remissions and low rate of BCR-ABL resistance mutations with imatinib treatment chronic myelogenous leukemia in patients treated in late chronic phase: a 5-year follow up. *Am J Hematol*. 2008;83(3):178-84. doi:10.1002/ajh.21055.
22. Hochhaus A, Druker B, Sawyers C, et al. Favorable long-term follow-up results over 6 years for response, survival, and safety with imatinib mesylate therapy in chronic-phase chronic myeloid leukemia after failure of interferon-alpha treatment. *Blood*. 2008;111(3):1039-43. doi:10.1182/blood-2007-07-103523.
23. Jabbour E, Kantarjian HM, Saglio G, et al. Early response with dasatinib or imatinib in chronic myeloid leukemia: 3-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood*. 2014;123(4):494-500. doi:10.1182/blood-2013-06-511592.
24. Kantarjian H, Sawyers C, Hochhaus A, et al. Hematologic and cytogenetic responses to imatinib mesylate in chronic myelogenous leukemia. *N Engl J Med*. 2002;346(9):645-52. doi:10.1056/NEJMoa011573.
25. Palandri F, Iacobucci I, Martinelli G, et al. Long-term outcome of complete cytogenetic responders after imatinib 400 mg in late chronic phase, philadelphia-positive chronic myeloid leukemia: the GIMEMA Working Party on CML. *J Clin Oncol*. 2008;26(1):106-11. doi:10.1200/JCO.2007.13.2373.
26. Rosti G, Martinelli G, Bassi S, et al. Molecular response to imatinib in late chronic-phase chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2004;103(6):2284-90. doi:10.1182/blood-2003-07-2575.
27. Deininger M, O'Brien SG, Guilhot F, et al. International Randomized Study of Interferon Vs STI571 (IRIS) 8-Year Follow up: Sustained Survival and Low Risk for Progression or Events in Patients with Newly Diagnosed Chronic Myeloid Leukemia in Chronic Phase (CML-CP) Treated with Imatinib. *ASH Annu Meet Abstr*. 2009;114(22):1126. Available at: <http://abstracts.hematologylibrary.org/cgi/content/abstract/114/22/1126>. Accessed May 30, 2014.
28. Kantarjian HM, Hochhaus A, Saglio G, et al. Nilotinib versus imatinib for the treatment of patients with newly diagnosed chronic phase, Philadelphia chromosome-positive, chronic myeloid leukaemia: 24-month minimum follow-up of the phase 3 randomised ENESTnd trial. *Lancet Oncol*. 2011;12(9):841-51. doi:10.1016/S1470-2045(11)70201-7.
29. Kantarjian HM, Shah NP, Cortes JE, et al. Dasatinib or imatinib in newly diagnosed chronic-phase chronic myeloid leukemia: 2-year follow-up from a randomized phase 3 trial (DASISION). *Blood*. 2012;119(5):1123-9. doi:10.1182/blood-2011-08-376087.
30. Cross NCP, White HE, Müller MC, Saglio G, Hochhaus A. Standardized definitions of molecular response in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2012;26(10):2172-5. doi:10.1038/leu.2012.104.
31. Weisberg E, Manley PW, Cowan-Jacob SW, Hochhaus A, Griffin JD. Second generation inhibitors of BCR-ABL for the treatment of imatinib-resistant chronic myeloid leukaemia. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(5):345-56. doi:10.1038/nrc2126.

32. Kantarjian HM, Giles F, Quintás-Cardama A, Cortes J. Important therapeutic targets in chronic myelogenous leukemia. *Clin Cancer Res*. 2007;13(4):1089-97. doi:10.1158/1078-0432.CCR-06-2147.
33. Weisberg E, Manley P, Mestan J, Cowan-Jacob S, Ray A, Griffin JD. AMN107 (nilotinib): a novel and selective inhibitor of BCR-ABL. *Br J Cancer*. 2006;94(12):1765-9. doi:10.1038/sj.bjc.6603170.
34. Weisberg E, Manley PW, Breitenstein W, et al. Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell*. 2005;7(2):129-41. doi:10.1016/j.ccr.2005.01.007.
35. Verstovsek S, Golemovic M, Kantarjian H, et al. AMN107, a novel aminopyrimidine inhibitor of p190 Bcr-Abl activation and of in vitro proliferation of Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia cells. *Cancer*. 2005;104(6):1230-6. doi:10.1002/cncr.21299.
36. Shah NP, Tran C, Lee FY, Chen P, Norris D, Sawyers CL. Overriding imatinib resistance with a novel ABL kinase inhibitor. *Science*. 2004;305(5682):399-401. doi:10.1126/science.1099480.
37. Tsao AS, Kantarjian H, Talpaz M. STI-571 in Chronic Myelogenous Leukaemia. *Br J Haematol*. 2002;119(1):15-24. doi:10.1046/j.1365-2141.2002.03899.x.
38. Mauro MJ. STI571: Targeting BCR-ABL as Therapy for CML. *Oncologist*. 2001;6(3):233-238. doi:10.1634/theoncologist.6-3-233.
39. Savage DG, Antman KH. Imatinib mesylate--a new oral targeted therapy. *N Engl J Med*. 2002;346(9):683-93. doi:10.1056/NEJMra013339.
40. Jabbour E, Cortes JE, Giles FJ, O'Brien S, Kantarjian HM. Current and emerging treatment options in chronic myeloid leukemia. *Cancer*. 2007;109(11):2171-81. doi:10.1002/cncr.22661.
41. Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med*. 1996;2(5):561-6. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8616716>. Accessed May 2, 2014.
42. Hughes TP, Hochhaus A, Branford S, et al. Long-term prognostic significance of early molecular response to imatinib in newly diagnosed chronic myeloid leukemia: an analysis from the International Randomized Study of Interferon and STI571 (IRIS). *Blood*. 2010;116(19):3758-65. doi:10.1182/blood-2010-03-273979.
43. Vardiman JW, Harris NL, Brunning RD. The World Health Organization (WHO) classification of the myeloid neoplasms. *Blood*. 2002;100(7):2292-302. doi:10.1182/blood-2002-04-1199.
44. CANELLOS GP, DEVITA VT, WHANG-PENG J, CARBONE PP. Hematologic and Cytogenetic Remission of Blastic Transformation in Chronic Granulocytic Leukemia. *Blood*. 1971;38(6):671-679. Available at: [http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/38/6/671.abstract?ijkey=51df450fbf75ba7e201d3ad6f6a2d0ab2f315d70&keytype2=tf\\_ipsecsha](http://bloodjournal.hematologylibrary.org/content/38/6/671.abstract?ijkey=51df450fbf75ba7e201d3ad6f6a2d0ab2f315d70&keytype2=tf_ipsecsha). Accessed May 19, 2014.
45. Marmont A, Damasio E. The treatment of terminal metamorphosis of chronic granulocytic leukaemia with corticosteroids and vincristine. *Acta Haematol*. 1973. Available at: <http://www.karger.com/Article/Abstract/208322>. Accessed May 19, 2014.
46. Rosenthal S, Canellos G. Blast crisis of chronic granulocytic leukemia: Morphologic variants and therapeutic implications. *Am J ....* 1977. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0002934377901991>. Accessed May 19, 2014.
47. Kantarjian HM, Cortes J, O'Brien S, et al. Imatinib mesylate (STI571) therapy for Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in blast phase. *Blood*. 2002;99(10):3547-53. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11986206>. Accessed May 18, 2014.
48. Druker BJ, Sawyers CL, Kantarjian H, et al. Activity of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in the blast crisis of chronic myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia with the Philadelphia chromosome. *N Engl J Med*. 2001;344(14):1038-42. doi:10.1056/NEJM200104053441402.

49. Sawyers CL, Hochhaus A, Feldman E, et al. Imatinib induces hematologic and cytogenetic responses in patients with chronic myelogenous leukemia in myeloid blast crisis: results of a phase II study. *Blood*. 2002;99(10):3530-9. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11986204>. Accessed May 18, 2014.
50. Fruehauf S, Topaly J, Buss EC, et al. Imatinib combined with mitoxantrone/etoposide and cytarabine is an effective induction therapy for patients with chronic myeloid leukemia in myeloid blast crisis. *Cancer*. 2007;109(8):1543-9. doi:10.1002/cncr.22535.
51. Hehlmann R. How I treat CML blast crisis. *Blood*. 2012;120(4):737-47. doi:10.1182/blood-2012-03-380147.
52. Gratwohl A, Stern M, Brand R, et al. Risk score for outcome after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective analysis. *Cancer*. 2009;115(20):4715-26. doi:10.1002/cncr.24531.
53. Hughes T, White D. Which TKI? An embarrassment of riches for chronic myeloid leukemia patients. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2013;2013:168-75. doi:10.1182/asheducation-2013.1.168.
54. Shah NP. Medical management of CML. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2007;2007(1):371-5. doi:10.1182/asheducation-2007.1.371.
55. Milojkovic D, Apperley J. Mechanisms of Resistance to Imatinib and Second-Generation Tyrosine Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Cancer Res*. 2009;15(24):7519-7527. doi:10.1158/1078-0432.CCR-09-1068.
56. Kantarjian HM. New Insights into the Pathophysiology of Chronic Myeloid Leukemia and Imatinib Resistance. *Ann Intern Med*. 2006;145(12):913. doi:10.7326/0003-4819-145-12-200612190-00008.
57. O'Hare T, Eide CA, Deininger MWN. Bcr-Abl kinase domain mutations, drug resistance, and the road to a cure for chronic myeloid leukemia. *Blood*. 2007;110(7):2242-9. doi:10.1182/blood-2007-03-066936.
58. Gorre ME, Mohammed M, Ellwood K, et al. Clinical resistance to STI-571 cancer therapy caused by BCR-ABL gene mutation or amplification. *Science*. 2001;293(5531):876-80. doi:10.1126/science.1062538.
59. Hofmann W-K, Komor M, Wassmann B, et al. Presence of the BCR-ABL mutation Glu255Lys prior to STI571 (imatinib) treatment in patients with Ph+ acute lymphoblastic leukemia. *Blood*. 2003;102(2):659-61. doi:10.1182/blood-2002-06-1756.
60. Nowicki MO, Falinski R, Koptyra M, et al. BCR/ABL oncogenic kinase promotes unfaithful repair of the reactive oxygen species-dependent DNA double-strand breaks. *Blood*. 2004;104(12):3746-53. doi:10.1182/blood-2004-05-1941.
61. Cortes J, Jabbour E, Kantarjian H, et al. Dynamics of BCR-ABL kinase domain mutations in chronic myeloid leukemia after sequential treatment with multiple tyrosine kinase inhibitors. *Blood*. 2007;110(12):4005-11. doi:10.1182/blood-2007-03-080838.
62. Koptyra M, Falinski R, Nowicki MO, et al. BCR/ABL kinase induces self-mutagenesis via reactive oxygen species to encode imatinib resistance. *Blood*. 2006;108(1):319-27. doi:10.1182/blood-2005-07-2815.
63. Milojkovic D, Apperley JF, Gerrard G, et al. Responses to second-line tyrosine kinase inhibitors are durable: an intention-to-treat analysis in chronic myeloid leukemia patients. *Blood*. 2012;119(8):1838-43. doi:10.1182/blood-2011-10-383000.
64. Soverini S, Hochhaus A, Nicolini FE, et al. BCR-ABL kinase domain mutation analysis in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: recommendations from an expert panel on behalf of European LeukemiaNet. *Blood*. 2011;118(5):1208-15. doi:10.1182/blood-2010-12-326405.
65. Willis SG, Lange T, Demehri S, et al. High-sensitivity detection of BCR-ABL kinase domain mutations in imatinib-naïve patients: correlation with clonal cytogenetic evolution but not response to therapy. *Blood*. 2005;106(6):2128-37. doi:10.1182/blood-2005-03-1036.
66. Khorashad JS, de Lavallade H, Apperley JF, et al. Finding of kinase domain mutations in patients with chronic phase chronic myeloid leukemia responding to imatinib may identify those at high risk of disease progression. *J Clin Oncol*. 2008;26(29):4806-13. doi:10.1200/JCO.2008.16.9953.

67. Hochhaus A, O'Brien SG, Guilhot F, et al. Six-year follow-up of patients receiving imatinib for the first-line treatment of chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2009;23(6):1054-61. doi:10.1038/leu.2009.38.
68. Fabarius A, Leitner A, Hochhaus A, et al. Impact of additional cytogenetic aberrations at diagnosis on prognosis of CML: long-term observation of 1151 patients from the randomized CML Study IV. *Blood*. 2011;118(26):6760-8. doi:10.1182/blood-2011-08-373902.
69. Cortes JE, Talpaz M, Giles F, et al. Prognostic significance of cytogenetic clonal evolution in patients with chronic myelogenous leukemia on imatinib mesylate therapy. *Blood*. 2003;101(10):3794-800. doi:10.1182/blood-2002-09-2790.
70. Verma D, Kantarjian H, Shan J, et al. Survival outcomes for clonal evolution in chronic myeloid leukemia patients on second generation tyrosine kinase inhibitor therapy. *Cancer*. 2010;116(11):2673-81. doi:10.1002/cncr.25015.
71. Soverini S, Martinelli G, Rosti G, et al. ABL mutations in late chronic phase chronic myeloid leukemia patients with up-front cytogenetic resistance to imatinib are associated with a greater likelihood of progression to blast crisis and shorter survival: a study by the GIMEMA Working Party on Chr. *J Clin Oncol*. 2005;23(18):4100-9. doi:10.1200/JCO.2005.05.531.
72. Jamieson CHM, Ailles LE, Dylla SJ, et al. Granulocyte-macrophage progenitors as candidate leukemic stem cells in blast-crisis CML. *N Engl J Med*. 2004;351(7):657-67. doi:10.1056/NEJMoa040258.
73. Minami Y, Stuart SA, Ikawa T, et al. BCR-ABL-transformed GMP as myeloid leukemic stem cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(46):17967-72. doi:10.1073/pnas.0808303105.
74. Reya T, Duncan AW, Ailles L, et al. A role for Wnt signalling in self-renewal of haematopoietic stem cells. *Nature*. 2003;423(6938):409-14. doi:10.1038/nature01593.
75. Copland M, Hamilton A, Elrick LJ, et al. Dasatinib (BMS-354825) targets an earlier progenitor population than imatinib in primary CML but does not eliminate the quiescent fraction. *Blood*. 2006;107(11):4532-9. doi:10.1182/blood-2005-07-2947.
76. Jiang X, Zhao Y, Smith C, et al. Chronic myeloid leukemia stem cells possess multiple unique features of resistance to BCR-ABL targeted therapies. *Leukemia*. 2007;21(5):926-35. doi:10.1038/sj.leu.2404609.
77. Jiang X, Smith C, Eaves A, Eaves C. The challenges of targeting chronic myeloid leukemia stem cells. *Clin Lymphoma Myeloma*. 2007;7 Suppl 2:S71-80. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17382016>. Accessed May 29, 2014.
78. Ichim CV. Kinase-independent mechanisms of resistance of leukemia stem cells to tyrosine kinase inhibitors. *Stem Cells Transl Med*. 2014;3(4):405-15. doi:10.5966/sctm.2012-0159.
79. Cortes JE, Kim D-W, Pinilla-Ibarz J, et al. Initial Findings From the PACE Trial: A Pivotal Phase 2 Study of Ponatinib in Patients with CML and Ph+ ALL Resistant or Intolerant to Dasatinib or Nilotinib, or with the T315I Mutation. *ASH Annu Meet Abstr*. 2011;118(21):109. Available at: <http://abstracts.hematologylibrary.org/cgi/content/abstract/118/21/109>. Accessed May 26, 2014.
80. Cortes JE, Talpaz M, Kantarjian HM, et al. A Phase 1 Study of DCC-2036, a Novel Oral Inhibitor of BCR-ABL Kinase, in Patients with Philadelphia Chromosome Positive (Ph+) Leukemias Including Patients with T315I Mutation. *ASH Annu Meet Abstr*. 2011;118(21):601. Available at: <http://abstracts.hematologylibrary.org/cgi/content/abstract/118/21/601>. Accessed May 26, 2014.
81. Eide CA, Adrian LT, Tyner JW, et al. The ABL switch control inhibitor DCC-2036 is active against the chronic myeloid leukemia mutant BCR-ABL T315I and exhibits a narrow resistance profile. *Cancer Res*. 2011;71(9):3189-95. doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-3224.
82. Cortes J, Lipton JH, Rea D, et al. Phase 2 study of subcutaneous omacetaxine mepesuccinate after TKI failure in patients with chronic-phase CML with T315I mutation. *Blood*. 2012;120(13):2573-80. doi:10.1182/blood-2012-03-415307.

83. Neviani P, Santhanam R, Trotta R, et al. The tumor suppressor PP2A is functionally inactivated in blast crisis CML through the inhibitory activity of the BCR/ABL-regulated SET protein. *Cancer Cell*. 2005;8(5):355-68. doi:10.1016/j.ccr.2005.10.015.
84. Lucas CM, Harris RJ, Giannoudis A, Copland M, Slupsky JR, Clark RE. Cancerous inhibitor of PP2A (CIP2A) at diagnosis of chronic myeloid leukemia is a critical determinant of disease progression. *Blood*. 2011;117(24):6660-8. doi:10.1182/blood-2010-08-304477.
85. Agarwal A, MacKenzie RJ, Pippa R, et al. Antagonism of SET using OP449 enhances the efficacy of tyrosine kinase inhibitors and overcomes drug resistance in myeloid leukemia. *Clin Cancer Res*. 2014;20(8):2092-103. doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-2575.
86. Liu Q, Zhao X, Frizzera F, et al. FTY720 demonstrates promising preclinical activity for chronic lymphocytic leukemia and lymphoblastic leukemia/lymphoma. *Blood*. 2008;111(1):275-84. doi:10.1182/blood-2006-10-053884.
87. Duy C, Hurtz C, Shojaee S, et al. BCL6 enables Ph+ acute lymphoblastic leukaemia cells to survive BCR-ABL1 kinase inhibition. *Nature*. 2011;473(7347):384-8. doi:10.1038/nature09883.
88. Zhang H, Li H, Xi HS, Li S. HIF1 $\alpha$  is required for survival maintenance of chronic myeloid leukemia stem cells. *Blood*. 2012;119(11):2595-607. doi:10.1182/blood-2011-10-387381.
89. Mak DH, Schober WD, Chen W, et al. Triptolide induces cell death independent of cellular responses to imatinib in blast crisis chronic myelogenous leukemia cells including quiescent CD34+ primitive progenitor cells. *Mol Cancer Ther*. 2009;8(9):2509-16. doi:10.1158/1535-7163.MCT-09-0386.
90. Mak DH, Wang R-Y, Schober WD, et al. Activation of apoptosis signaling eliminates CD34+ progenitor cells in blast crisis CML independent of response to tyrosine kinase inhibitors. *Leukemia*. 2012;26(4):788-94. doi:10.1038/leu.2011.285.
91. Pellicano F, Simara P, Sinclair A, et al. The MEK inhibitor PD184352 enhances BMS-214662-induced apoptosis in CD34+ CML stem/progenitor cells. *Leukemia*. 2011;25(7):1159-67. doi:10.1038/leu.2011.67.
92. Peterson LF, Mitrikeska E, Giannola D, et al. p53 stabilization induces apoptosis in chronic myeloid leukemia blast crisis cells. *Leukemia*. 2011;25(5):761-9. doi:10.1038/leu.2011.7.
93. Samanta AK, Chakraborty SN, Wang Y, Schlette E, Reddy EP, Arlinghaus RB. Destabilization of Bcr-Abl/Jak2 Network by a Jak2/Abl Kinase Inhibitor ON044580 Overcomes Drug Resistance in Blast Crisis Chronic Myelogenous Leukemia (CML). *Genes Cancer*. 2010;1(4):346-59. doi:10.1177/1947601910372232.
94. White D, Saunders V, Lyons AB, et al. In vitro sensitivity to imatinib-induced inhibition of ABL kinase activity is predictive of molecular response in patients with de novo CML. *Blood*. 2005;106(7):2520-6. doi:10.1182/blood-2005-03-1103.
95. Thomas J, Wang L, Clark RE, Pirmohamed M. Active transport of imatinib into and out of cells: implications for drug resistance. *Blood*. 2004;104(12):3739-45. doi:10.1182/blood-2003-12-4276.
96. White DL, Radich J, Soverini S, et al. Chronic phase chronic myeloid leukemia patients with low OCT-1 activity randomized to high-dose imatinib achieve better responses and have lower failure rates than those randomized to standard-dose imatinib. *Haematologica*. 2012;97(6):907-14. doi:10.3324/haematol.2011.056457.
97. White DL, Saunders VA, Dang P, et al. Most CML patients who have a suboptimal response to imatinib have low OCT-1 activity: higher doses of imatinib may overcome the negative impact of low OCT-1 activity. *Blood*. 2007;110(12):4064-72. doi:10.1182/blood-2007-06-093617.
98. Chuah C, Huang JWJ, Ng K-P, Ong ST. The BIM Deletion Polymorphism: A Paradigm Of a Permissive Interaction Between Germline and Acquired TKI Resistance Factors In Chronic Myeloid Leukemia. *Blood*. 2013;122(21):3977. Available at: <http://bloodjournal.org/content/122/21/3977.abstract>. Accessed May 29, 2014.

99. Wetzler M, Segal D. Omacetaxine as an anticancer therapeutic: what is old is new again. *Curr Pharm Des.* 2011;17(1):59-64. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21294709>. Accessed May 30, 2014.
100. McWeeney SK, Pemberton LC, Loriaux MM, et al. A gene expression signature of CD34+ cells to predict major cytogenetic response in chronic-phase chronic myeloid leukemia patients treated with imatinib. *Blood.* 2010;115(2):315-25. doi:10.1182/blood-2009-03-210732.